

证 明

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日： 2003.06.02

申 请 号： 03136406.3

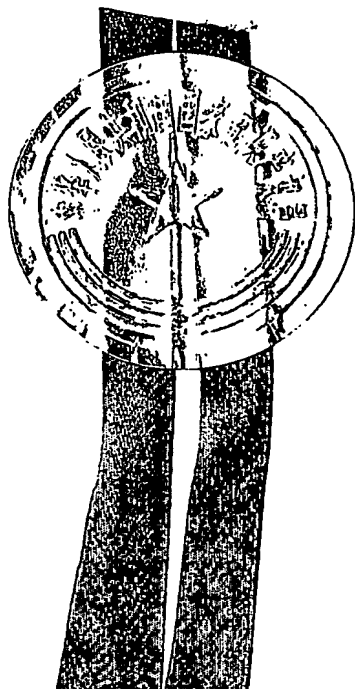
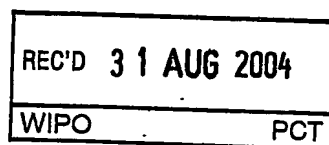
申 请 类 别： 发明

发 明 创 造 名 称： 去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物及其应用

发明人或设计人： 新疆华世丹药物研究有限责任公司

申 请 人： 武嘉林、陈琪、曹日晖、于富生、王子厚、

彭文烈



**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

中华人民共和国

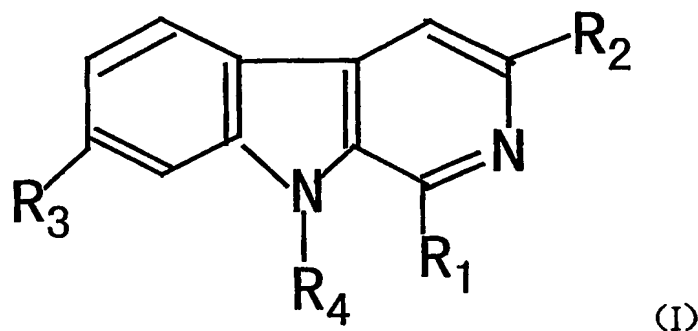
国家知识产权局局长

王 景 川

2004 年 07 月 26 日

权利要求书

1、下述通式 (I) 化合物:



其中,

R_1 是氢、 C_{1-6} 的烷基或 C_{6-10} 的芳烷基或取代芳烷基;

R_2 是氢或 C_{1-6} 的烷氧基羰基;

R_3 是氢、羟基或 C_{1-6} 的烷氧基;

R_4 是氢、 C_{1-6} 的烷基、 C_{1-6} 的羟基烷基或 C_{6-10} 的芳烷基或取代芳烷基;

且 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 不同时是氢;

当 R_2 、 R_4 为氢时, R_1 不为甲基且 R_3 不为甲氧基;

当 R_1 为甲基时, R_2 、 R_3 、 R_4 不同时都为氢;

当 R_1 为甲基、 R_2 为氢、 R_3 为甲氧基时, R_4 不为甲基、乙基或丁基;

当 R_1 、 R_3 为氢时, R_2 不为甲氧基羰基且 R_4 不为甲基。

2、权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于 R_1 是氢或 C_{1-4} 的烷基或 C_{6-8} 的芳烷基。

3、权利要求 2 所述的化合物, 其特征在于 R_1 是氢或 C_{1-2} 的烷基。

4、权利要求 3 所述的化合物, 其特征在于 R_1 是氢。

5、权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于 R_2 是氢或 C_{1-4} 的烷氧基羰基。

6、权利要求 5 所述的化合物, 其特征在于 R_2 是氢或 C_{1-2} 的烷氧基羰基。

- 7、权利要求6所述的化合物，其特征在于 R_2 是乙氧基羰基。
- 8、权利要求1所述的化合物，其特征在于 R_3 是氢、羟基或 C_{1-4} 的烷氧基。
- 9、权利要求8所述的化合物，其特征在于 R_3 是氢。
- 10、权利要求1所述的化合物，其特征在于 R_4 是氢、 C_{1-4} 的烷基、 C_{1-4} 的羟基烷基或 C_{6-8} 的芳烷基或取代芳烷基。
- 11、权利要求10所述的化合物，其特征在于 R_4 是氢、 C_{1-2} 的烷基、 C_{1-2} 的羟基烷基或 C_{6-8} 的芳烷基或取代芳烷基。
- 12、权利要求11所述的化合物，其特征在于 R_4 是乙基或卞基。
- 13、权利要求12所述的化合物，其特征在于 R_4 是卞基。
- 14、权利要求1所述的化合物，其特征在于 R_1 为氢、 C_{1-4} 的烷基或 C_{6-8} 芳烷基； R_2 为氢或 C_{1-4} 的烷氧基羰基； R_3 为氢、羟基或 C_{1-4} 的烷氧基； R_4 为氢或 C_{1-2} 的烷基、 C_{1-2} 的羟基烷基、 C_{6-8} 的芳烷基或取代芳烷基。
- 15、权利要求14所述的化合物，其中 R_1 为氢； R_2 为 C_{1-2} 的烷氧基羰基； R_3 为氢； R_4 为 C_{1-2} 的烷基或 C_{6-8} 的芳香烷基或取代芳烷基。
- 16、权利要求15所述的化合物，其中 R_1 为氢； R_2 为乙氧基羰基； R_3 为氢； R_4 为乙基或卞基。
- 17、权利要求16所述的化合物，其中 R_1 为氢； R_2 为乙氧基羰基； R_3 为氢； R_4 为卞基。
- 18、权利要求1~17中任何一项的化合物在制备治疗肿瘤药物中的应用。

说明书

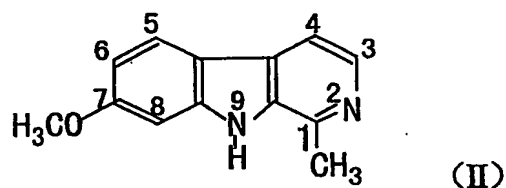
去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物及其应用

技术领域

本发明属于药物化合物领域，更具体地说，是涉及通式 (I) 所示的去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物，本发明还涉及该类化合物的应用。

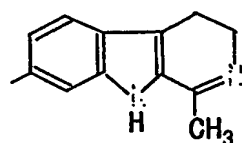
背景技术

去氢骆驼蓬碱 (Harmine) 是 β -咔啉 (β -carboline) 类生物碱家族的一员，其化学名为 7-甲氧基-1-甲基-9H-吡咯[3, 4-b]吲哚，分子式为 $C_{13}H_{12}N_2O$ ，分子量 212.25，熔点 261°C ，化学结构式如 (II)：

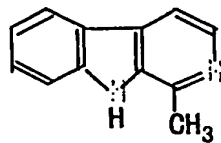


去氢骆驼蓬碱及其类似物广泛分布于自然界。自首次分离到去氢骆驼蓬碱类化合物以来，人们已经从海洋生物、植物以及哺乳动物的体液和组织中分离到了多种去氢骆驼蓬碱类化合物；另外，自 1928 年 Tatsui [G.Tatsui, J.Pharm.Soc., Japan 49 (1929), 453] 首次报道了去氢骆驼蓬碱类化合物 1,2,3,4-四氢- β -咔啉的化学合成、1930 年 Spath 等 [Spath, Lederer. Ber.63B:120(1930)] 首次报道了去氢骆驼蓬碱的合成以来，人们开展了大量的去氢骆驼蓬碱类化合物的合成研究，据不完全统计，到目前为止，人们报道了约 300 个以上的去氢骆驼蓬碱类化合物，新的去氢骆驼蓬碱类化合物仍在不断增加。

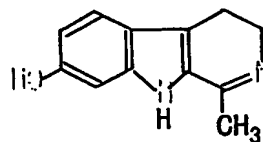
目前已经报道从生物体内分离到的具有代表性的 β -咔啉类化合物主要有去氢骆驼蓬碱 (Harmine)、骆驼蓬碱 (Hamaline)、哈尔明 (Harmaline)、THBC、哈明醇 (Harmalol)、诺哈明 (Norharmaline) 等，它们的结构式如 (III) 所示。



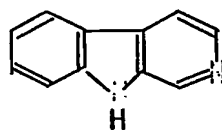
Harmaline



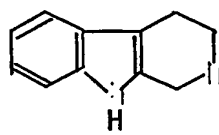
Harmane



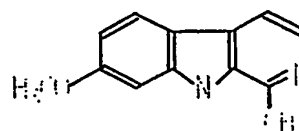
Harmalol



Norharmane



THBC



Harmine

(III)

氢骆驼蓬碱类化合物具有显著的抗肿瘤活性，但也有明显的中枢神经系统毒性。其体外抗肿瘤活性试验结果表明，骆驼蓬碱类化合物对宫颈癌 Hela、S-180 体外培养细胞、肝癌 BEL-7402、胃癌 MGC-803、鼻咽癌 CNE2、乳腺癌 MA782'SS、白血病 K562 等多种体外培养的肿瘤细胞有明显的抑制作用；体内抗肿瘤活性试验结果显示骆驼蓬总碱、骆驼蓬植物中提取的混合生物碱对小鼠 S-180、网织细胞肉瘤 L2、小鼠肝癌都有显著的疗效，与顺铂、阿霉素联用有明显协同作用；然而，骆驼蓬碱及其衍生物的毒性主要表现为神经系统毒性。急性毒性表现为神经系统先兴奋（颤抖、竖尾、惊厥）、后抑制，最后死亡，未死亡的动物于给药次日即可恢复正常。亚急性毒性试验提示骆驼蓬总碱对造血系统、免疫系统、生殖系统并无明显毒性，长期毒副作用也并不显著，其毒性靶器官是肾脏。

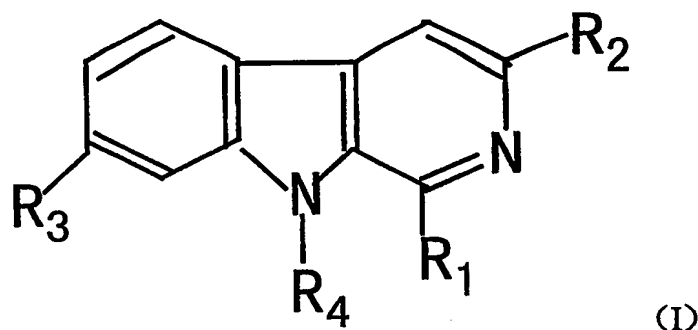
目前的去氢骆驼蓬碱及其类似物虽然有明确的抗肿瘤活性，但也有明确的神经系统毒副作用，还不存在一种既有高的抗肿瘤活性，神经系统毒性又低的化合物可用于临床上作为抗癌药物。

发明内容

本发明的目的在于提供一类具有增强抗肿瘤活性并降低神经系统毒性而且制备方法简单、得率高的去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物；

本发明的另一目的在于提供上述化合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

本发明的去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物具有以下通式 (I) 结构：



其中，

R_1 是氢、 C_{1-6} 的烷基或 C_{6-10} 的芳烷基或取代芳烷基；

R_2 是氢或 C_{1-6} 的烷氧基羰基；

R_3 是氢、羟基或 C_{1-6} 的烷氧基；

R_4 是氢、 C_{1-6} 的烷基、 C_{1-6} 的羟基烷基或 C_{6-10} 的芳烷基或取代芳烷基；

且 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 不同时是氢；

当 R_2 、 R_4 为氢时， R_1 不为甲基且 R_3 不为甲氧基；

当 R_1 为甲基时， R_2 、 R_3 、 R_4 不同时都为氢；

当 R_1 为甲基、 R_2 为氢、 R_3 为甲氧基时， R_4 不为甲基、乙基或丁基；

当 R_1 、 R_3 为氢时， R_2 不为甲氧基羰基且 R_4 不为甲基。

上述通式 (I) 化合物，优选 R_1 是氢、 C_{1-4} 的烷基或 C_{6-8} 的芳烷基；进一步优选为 R_1 是氢或 C_{1-2} 的烷基；最优选 R_1 是氢。

上述通式 (I) 化合物，优选 R_2 是氢或 C_{1-4} 的烷氧基羰基；进一步优选 R_2 是氢或 C_{1-2} 的烷氧基羰基；最优选 R_2 是乙氧基羰基。

上述通式 (I) 化合物，优选 R_3 是氢、羟基或 C_{1-4} 的烷氧基；最优选 R_3 是氢。

上述通式 (I) 化合物，优选 R_4 是氢、 C_{1-4} 的烷基、 C_{1-4} 的羟基烷基或 C_{6-8} 的芳烷基或取代芳烷基；进一步优选 R_4 是氢、 C_{1-2} 的烷基、 C_{1-2} 的羟基烷基或 C_{6-8} 的芳烷基或取代芳烷基；比较优选 R_4 是乙基或卞基；最优选 R_4 是卞基。

上述通式 (I) 化合物, 当优选 R_1 为氢、 C_{1-4} 的烷基或 C_{6-8} 芳烷基时; R_2 优选为氢或 C_{1-4} 的烷氧基羰基; R_3 优选为氢、羟基或 C_{1-4} 的烷氧基; R_4 优选为氢或 C_{1-2} 的烷基、 C_{1-2} 的羟基烷基、 C_{6-8} 的芳烷基或取代芳烷基。

上述通式 (I) 化合物, 当 R_1 进一步选为氢时; R_2 进一步选为 C_{1-2} 的烷氧基羰基; R_3 进一步选为氢; R_4 进一步选为 C_{1-2} 的烷基或 C_{6-8} 的芳香烷基。

上述通式 (I) 化合物, 当 R_1 取最优选为氢时; R_2 最优选为乙氧基羰基; R_3 最优选为氢; R_4 比较优选为乙基或卞基, 最优选为卞基。

上述所列的通式 (I) 化合物的制备方法, 可以直接从去氢骆驼蓬碱出发, 对其 7、9 两个位点分别进行结构修饰或组合进行结构修饰, 合成目的化合物, 如图一所示; 或者是从色氨酸及其衍生物出发, 在合成过程中或在合成出去氢骆驼蓬碱的类似物后, 对其 1、3、9 等位点分别进行结构修饰或组合进行结构修饰, 合成目的化合物, 如图二所示。

本发明的通式化合物, 经过体外抗肿瘤活性试验以及体内抗肿瘤药理药效的研究, 显示出强的抗肿瘤活性及低神经系统毒性, 并且制备方法简便, 收率高。本发明的化合物可应用于制备治疗肿瘤药物。

附图说明

图 1 是对去氢骆驼蓬碱 7、9 位结构修饰的合成路线;

图 2 是从色氨酸出发合成去氢骆驼蓬碱类似物的路线。

具体实施方式

实施例一 1,2,3,4-四氢- β -吡啶-3-羧酸的制备方法

在 100ml 的圆底烧瓶中加入 L-色氨酸 (10.2g, 0.05mol), NaOH (2.0g, 0.05mol), 和 H_2O (20ml)。搅拌至溶液澄清, 然后加入甲醛 (37%; 5.5ml, 0.06mol), 混合物室温搅拌反应 4h, 加热回流反应 3h; 将混合物倒入 20ml 冰水中, 搅拌下用 5N HCl 调节 pH 至 5 左右, 即析出白色固体, 冰箱 4°C 放置过夜, 过滤, 水洗, 少量甲醇洗, 干燥, 得白色固体 9.2g, 收率 85%。mp. 304-305°C。MS $m/e(M+1)$ 217; IR (KBr, cm^{-1}): 3100, 1628.

实施例二 1,2,3,4-四氢- β -吡啶-3-羧酸甲酯(H-03-01)的制备方法

在 500ml 的圆底烧瓶中加入 1,2,3,4-四氢- β -吡啶-3-羧酸 (9.2 g, 12mol), 甲醇 250ml, 混合物用冰水冷却, 搅拌下通入干燥的氯化氢气体直至溶液透明, 室温搅拌 20min, 加热回流 2h, 减压蒸除甲醇, 固体过滤, 丙酮洗涤, 得灰白色固

体。将上述固体溶于 100ml 冷水，饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 9，乙酸乙酯萃取(3 × 300ml)，合并乙酸乙酯萃取液，水洗，饱和食盐水洗，无水硫酸钠干燥，减压浓缩，乙酸乙酯重结晶得白色固体 5.6g，收率 57%。mp.191-193 °C; MS:m/e(M+1)231; IR(KBr, cm⁻¹): 3100, 1628.

实施例三 β-吡啶-3-羧酸甲酯(H-03-03)的制备方法

在 100ml 的圆底烧瓶中加入 1,2,3,4-四氢-β-吡啶-3-羧酸甲酯(2.3g, 10mmol)、冰乙酸(40ml)，混合物冷却至 5°C 左右，搅拌下加入 Pb(OAc)₄ (8.9g, 20mmol)，5°C 反应 30min，室温搅拌反应 3hr，然后将混合物倒入 100ml 冰水中，用饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 8，乙酸乙酯萃取(3×300ml)，合并乙酸乙酯萃取液，水洗，饱和食盐水洗，无水硫酸钠干燥，减压浓缩，得淡黄色固体，丙酮重结晶，得白色固体 1.8g，收率 80%。mp.258-260°C。MS:m/e(M+1)227; IR(KBr, cm⁻¹): 3100, 1628

实施例四 9-甲基-β-吡啶-3-羧酸甲酯(H-03-05)的制备方法

在 100ml 圆底烧瓶中分别加入实施例三的 β-吡啶-3-羧酸甲酯(2.26g, 10mmol)，20ml 二甲基甲酰胺，50ml 四氢呋喃，室温搅拌至溶液澄清，然后加入 0.72g (30mmol) NaH，搅拌至无气泡产生，滴加 3.5ml CH₃I，室温搅拌 1h。减压蒸除四氢呋喃，剩余物倒入 100ml 冰水，乙酸乙酯萃取(150ml × 3)，合并乙酸乙酯萃取液，水洗(100ml × 2)，饱和盐水洗(50ml)，无水 Na₂SO₄ 干燥，过滤，减压浓缩至干，10ml 无水乙醇溶解，加 1ml 浓 HCl，减压浓缩至干，丙酮重结晶，得灰白色固体 2.2g，收率 79%。

mp.212-214°C。

MS:m/e(M+1)241

IR(KBr, cm⁻¹): 1730, 1631

¹H-NMR(CDCl₃) δ: 8.94(s, 1H, Ar-H), 8.88(s, 1H, Ar-H), 8.20-8.21(d, 1H, J=7.5Hz, Ar-H), 7.657.68(t, 1H, J=7.5Hz, Ar-H), 7.50-7.52(d, 1H, J=8Hz, Ar-H), 7.36-7.39(t, 1H, J=8Hz, Ar-H), 4.06(s, 3H, CH₃O), 4.00(s, 3H, CH₃-N)

实施例五 9-乙基-β-吡啶-3-羧酸甲酯(H-03-06)的制备方法

在 100ml 圆底烧瓶中分别加入实施例三的 β -咔啉-3-羧酸甲酯 (2.26g, 10mmol), 20ml 二甲基甲酰胺, 30ml 四氢呋喃, 室温搅拌至溶液澄清, 然后加入 0.72g (30mmol) NaH, 搅拌至无气泡产生, 滴加 4ml $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{I}$, 室温搅拌反应 3h, 减压蒸除四氢呋喃, 剩余物倒入 150ml 冰水, 乙酸乙酯萃取 (150ml \times 3), 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗 (100ml \times 2), 饱和盐水洗 (100ml), 无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 减压浓缩至干, 50ml 无水乙醇溶解, 加 5ml 浓 HCl, 减压浓缩至干, 丙酮重结晶, 得灰白色固体 2.2g, 收率 69%。

mp. 205-207°C。

MS: m/e(M+1) 255

IR(KBr, cm^{-1}): 1724, 1632

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 8.90-9.00(m, 2H, Ar-H), 8.21-8.23(d, 1H, J=8Hz, Ar-H), 7.65-7.68(t, 1H, J=7.5Hz, Ar-H), 7.52-7.54(d, 1H, J=8Hz, Ar-H), 7.36-7.39(t, 1H, J=7Hz, Ar-H), 4.51(s, 2H, $\text{-CH}_2\text{-}$), 4.07(s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-}$), 1.52(s, 3H, $\text{CH}_3\text{-}$)

实施例六 9-丁基- β -咔啉-3-羧酸甲酯的制备方法

在 100ml 圆底烧瓶中分别加入实施例三的 β -咔啉-3-羧酸甲酯 (2.26g, 10mmol), 20ml 二甲基甲酰胺, 50ml 四氢呋喃, 室温搅拌至溶液澄清, 然后加入 0.72g (30mmol) NaH, 搅拌至无气泡产生, 滴加 5ml $n\text{-C}_4\text{H}_9\text{I}$ (1-碘代正丁烷), 然后搅拌加热回流 5h。反应完毕, 减压蒸除四氢呋喃, 剩余物倒入 150ml 冰水, 乙酸乙酯萃取 (150ml \times 3), 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗 (100ml \times 2), 饱和盐水洗 (100ml), 无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 减压浓缩至干, 10ml 无水乙醇溶解, 加 5ml 浓 HCl, 减压浓缩至干, 丙酮重结晶, 得灰白色固体 2.4g, 收率 75%。

mp. 194-195°C。

MS: m/e(M+1) 283

IR(KBr, cm^{-1}): 1727, 1629

实施例七 9-苯甲基- β -咔啉-3-羧酸甲酯的制备方法

在 100ml 圆底烧瓶中分别加入实施例三的 β -咔啉-3-羧酸甲酯 (2.26g, 10mmol), 20ml 二甲基甲酰胺, 50ml 四氢呋喃, 室温搅拌至溶液澄清, 然后加入 0.72g (30mmol) NaH, 搅拌至无气泡产生, 滴加 15ml $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{I}$ (1-碘代

甲基苯),然后搅拌加热回流 8h。反应完毕,减压蒸除四氢呋喃,加入 200ml 2N 盐酸水溶液,甲苯萃取(100ml×2)。水相用饱和 NaHCO₃ 溶液中和(pH8),然后乙酸乙酯萃取(300ml×3),合并乙酸乙酯萃取液,水洗(200ml×2),饱和盐水洗(200ml×2),无水 Na₂SO₄ 干燥,过滤,减压浓缩至干,100ml 无水乙醇溶解,加 5ml 浓 HCl,减压浓缩至干,丙酮重结晶,得灰白色固体 2.6g,收率 74%。

mp.196-198°C。

MS:m/e(M+1)317

IR (KBr,cm⁻¹):1725, 1626

实施例八 β-吡啶-3-羧酸的(H-03-04)制备方法

在 50ml 的圆底烧瓶中加入实施例三的 β-吡啶-3-羧酸甲酯(1.13g,5mmol)、氢氧化钠(0.8g, 20mmol)、乙醇(10ml), H₂O (20ml), 混合物加热回流 1h, 然后减压蒸除乙醇,混合物用 5N HCl 调节 pH 至 5, 过滤, 水洗, 甲醇洗, 无水乙醇重结晶, 得白色固体 0.96g, 收率 90%。

mp307-309°C。

MS:m/e(M+1)213

IR (KBr,cm⁻¹):3100,1625

实施例九 1,2,3,4-四氢-β-吡啶-3-羧酸乙酯的制备方法

在 500ml 的圆底烧瓶中加入实施例一的 1,2,3,4-四氢-β-吡啶-3-羧酸(10.5 g), 乙醇 300ml, 混合物用冰水冷却, 搅拌下通入干燥的氯化氢气体直至溶液透明, 室温搅拌 20min, 加热回流 2h, 减压蒸除乙醇, 得白色固体。将上述固体溶于 300ml 冷水, 加乙酸乙酯 300ml, 饱和碳酸氢钠溶液调节水相 pH 至 9, 分出乙酸乙酯层, 水相乙酸乙酯萃取(300ml×2), 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩至约 150ml, 冷至室温后, 放入冰箱重结晶, 过滤, 少量乙醚洗, 得白色固体 7.5g, 收率 63%。

mp.149-150°C。

MS:m/e(M+1)245

IR (KBr,cm⁻¹):1719, 1626

实施例十 β-吡啶-3-羧酸乙酯(H-03-08)的制备方法

在 250ml 的圆底烧瓶中加入 1,2,3,4-四氢- β -咔啉-3-羧酸乙酯(4.8g,20mmol)、冰乙酸 (80ml), 混合物冷却至 5℃ 左右, 搅拌下加入 $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ (17.8g,40mmol), 5℃ 反应 1h, 室温搅拌反应 3h, 然后将混合物倒入 100ml 冰水中, 用饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 8, 乙酸乙酯萃取(3 \times 500ml), 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩至约 150ml, 冷却至室温后, 放入冰箱重结晶, 过滤, 得白色固体 4.1g, 收率 85%。

mp.228-230℃。

MS:m/e(M+1)241

IR (KBr, cm^{-1}): 1719, 1620

实施例十一 9-甲基- β -咔啉-3-羧酸乙酯的制备方法

在 100ml 圆底烧瓶中分别加入实施例十的 β -咔啉-3-羧酸乙酯 (2.4g,10mmol), 20ml 二甲基甲酰胺, 50ml 四氢呋喃, 室温搅拌至溶液澄清, 然后加入 0.72g (30mmol) NaH, 搅拌至无气泡产生, 滴加 3.5ml CH_3I , 室温搅拌 1h。减压蒸除四氢呋喃, 剩余物倒入 100ml 冰水, 乙酸乙酯萃取 (150ml \times 3), 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗 (100ml \times 2), 饱和盐水洗 (50ml), 无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 减压浓缩至干, 10ml 无水乙醇溶解, 加 1ml 浓 HCl, 减压浓缩至干, 丙酮重结晶, 得白色固体 2.2g, 收率 76%。

mp.228-230℃。

MS:m/e(M+1)255

IR (KBr, cm^{-1}): 1723,1622

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 8.94(s,1H,Ar-H),8.86(s,1H,Ar-H),8.19-8.20(d,1H,J=7.5Hz,Ar-H),7.63-7.66(t,1H,J=7Hz,Ar-H),7.49-7.51(d,1H,J=10.5Hz,Ar-H),7.35-7.37(t,1H,J=7Hz,Ar-H),4.52-4.56(m,2H,-CH₂-),3.98(s,3H,CH₃-N),1.48-1.51(t,3H,J=7Hz)

实施例十二 9-乙基- β -咔啉-3-羧酸乙酯(H-03-09)的制备方法

在 100ml 圆底烧瓶中分别加入实施例十的 β -咔啉-3-羧酸乙酯 (2.4g,10mmol), 20ml 二甲基甲酰胺, 50ml 四氢呋喃, 室温搅拌至溶液澄清, 然后加入 0.72g (30mmol) NaH, 搅拌至无气泡产生, 滴加 5ml $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{I}$, 室温搅拌 3hr。TLC 检查, 减压蒸除四氢呋喃, 剩余物倒入 100ml 冰水, 乙酸乙酯萃取

(150ml×3)，合并乙酸乙酯萃取液，水洗(100ml×2)，饱和盐水洗(50ml)，无水 Na₂SO₄ 干燥，过滤，减压浓缩至干，10ml 无水乙醇溶解，加 5ml 浓 HCl，减压浓缩至干，丙酮重结晶，得白色固体 2.0g，收率 65%。

mp.186-187°C。

MS:m/e(M+1)269

IR (cm⁻¹):1724,1632

¹H-NMR(CDCl₃) δ: 8.93(s,1H,Ar-H),8.86(s,1H,Ar-H),8.18-8.20(d,1H,J=8Hz,Ar-H),7.62-7.64(t,1H,J=7.5Hz,Ar-H),7.48-7.50(d,1H,J=8Hz,Ar-H),7.33-7.36(t,1H,J=7.5Hz,Ar-H),4.42-4.56(m,4H,-CH₂-),1.46-1.52(m,6H,CH₃-)

实施例十三 9-丁基-β-咔啉-3-羧酸乙酯的制备方法

在 100ml 圆底烧瓶中分别加入实施例十的 β-咔啉-3-羧酸乙酯(2.4g,10mmol)，20ml 二甲基甲酰胺，50ml 四氢呋喃，室温搅拌至溶液澄清，然后加入 0.72g (30mmol) NaH，搅拌至无气泡产生，滴加 6ml CH₃CH₂I，加热回流 4h。TLC 检查，减压蒸除四氢呋喃，剩余物倒入 150ml 冰水，乙酸乙酯萃取(150ml×3)，合并乙酸乙酯萃取液，水洗(100ml×2)，饱和盐水洗(100ml)，无水 Na₂SO₄ 干燥，过滤，减压浓缩至干，30ml 无水乙醇溶解，加 5ml 浓 HCl，减压浓缩至干，丙酮重结晶，得白色固体 2.6g，收率 78%。

mp.228-230°C。

MS:m/e(M+1)297

IR (KBr,cm⁻¹):1725,1629

实施例十四 9-苯甲基-β-咔啉-3-羧酸乙酯(H-03-07)的制备方法

在 100ml 圆底烧瓶中分别加入实施例十的 β-咔啉-3-羧酸乙酯(1.2g,5mmol)，10ml 二甲基甲酰胺，30ml 四氢呋喃，室温搅拌至溶液澄清，然后加入 0.36g (30mmol) NaH，搅拌至无气泡产生，加 8ml C₆H₅CH₂I，加热回流 8h。TLC 检查，减压蒸除四氢呋喃，剩余物中加入 2N 盐酸 150ml，甲苯萃取，甲苯层用 50ml 2N 盐酸洗涤，合并水相，甲苯萃取，水相用碳酸氢钠调 pH 至 9，乙酸乙酯萃取(150ml×3)，合并乙酸乙酯萃取液，水洗(100ml×2)，饱和盐水洗(100ml)，无水 Na₂SO₄ 干燥，过滤，减压浓缩至干，丙酮重结晶，得白色固体 1.2g，收率 66%。

mp.186-188°C。

MS:m/e(M+1)331

IR (KBr,cm⁻¹):1723.1621

¹H-NMR(CDCl₃) δ : 8.91(s,2H,Ar-H),8.23-8.25(d,1H,J=8Hz,Ar-H),7.59-7.62(m,1H,Ar-H),7.49-7.50(d,1H,J=8Hz,Ar-H),7.36-7.39(m,1H,Ar-H),7.25-7.27(m,3H,Ar-H),7.14-7.16(m,2H,Ar-H),5.62(s,2H,Ar-H),4.51-4.55(m,2H,-CH₂-),1.47-1.50(t,3H,J=7Hz)

实施例十五 7-甲氧基-1,9-二甲基-吡咯[3, 4-b]吡啶盐酸盐(H-09-05)的制备方法
在 250ml 圆底烧瓶中分别加入 2.1g (10mmol) 骆驼蓬碱, 30ml 二甲基甲酰胺, 50ml 四氢呋喃, 室温搅拌至溶液澄清, 然后加入 0.72g (30mmol) NaH, 搅拌至无气泡产生, 滴加 3.5ml CH₃I (碘甲烷), 室温搅拌反应 2h。减压蒸除四氢呋喃, 剩余物倒入 100ml 冰水, 乙酸乙酯萃取 (150ml×3), 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗 (300ml×2), 饱和盐水洗 (300ml×2), 无水 Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 减压浓缩至干, 乙醚重结晶, 得白色针状晶体 1.8g, 收率 80%。取白色固体 1.0g, 用 30ml 无水乙醇溶解, 加 5ml 浓 HCl, 减压浓缩至干, 丙酮重结晶, 得灰白色固体, 为产品的盐酸盐。

mp.121-123 °C。

MS:m/e(M+1)226

IR (KBr,cm⁻¹):1628

实施例十六 7-甲氧基-1-甲基-9-乙基-吡咯[3, 4-b]吡啶盐酸盐(H-09-01)的制备方法

在 250ml 圆底烧瓶中分别加入 2.1g (10mmol) 去氢骆驼蓬碱, 30ml 二甲基甲酰胺, 50ml 四氢呋喃, 室温搅拌至溶液澄清, 然后加入 0.72g (30mol) NaH, 搅拌至无气泡产生, 滴加 4ml CH₃CH₂I (碘乙烷), 室温搅拌反应 4h。减压蒸除四氢呋喃, 剩余物倒入 100ml 冰水, 乙酸乙酯萃取 (150ml×3), 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗 (300ml×2), 饱和盐水洗 (300ml×2), 无水 Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 减压浓缩至干, 乙醚重结晶, 得白色针状固体 2.0g, 收率 83%。取固体 1.0g, 30ml 无水乙醇溶解, 加 5ml 浓 HCl, 减压浓缩至干, 丙酮重结晶, 得灰白色针状晶体, 为产品盐酸盐。

mp.97-101°C。

MS:m/e(M+1)241

IR (KBr, cm^{-1}): 1622

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 6.86-8.27 (5H, m, Ar-H), 4.53-4.57 (2H, m, $\text{J}=7.5\text{Hz}$, -CH₂-),

3.95 (3H, s, CH₃O-), 3.05 (3H, s, CH₃-), 1.43-1.46 (3H, t, $\text{J}=2.5\text{Hz}$, CH₃[CH₂]-)

实施例十七 7-甲氧基-1-甲基-9-丁基-吡咯[3, 4-b]吡啶 盐酸盐(H-09-02)的制备方法

在 250ml 圆底烧瓶中分别加入 2.1g (10mmol) 去氢骆驼蓬碱, 30ml 二甲基甲酰胺, 50ml 四氢呋喃, 室温搅拌至溶液澄清, 然后加入 0.72g (30mol) NaH, 搅拌至无气泡产生, 滴加 5ml $n\text{-C}_4\text{H}_9\text{I}$ (1-碘代正丁烷), 加热搅拌反应 5hr。减压蒸除四氢呋喃, 剩余物倒入 100ml 冰水, 乙酸乙酯萃取 (150ml \times 3), 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗 (300ml \times 2), 饱和盐水洗 (300ml \times 2), 无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 减压浓缩, 乙酸乙酯重结晶, 过滤, 得白色固体 2.1g, 收率 78%。取固体 1.0g, 30ml 无水乙醇溶解, 加 5ml 浓 HCl, 减压浓缩至干, 丙酮重结晶, 得灰白色针状晶体, 为产品盐酸盐。

mp. 104-105°C。

MS: $m/e(M+1)$ 269

IR (KBr, cm^{-1}): 1621

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 0.97-1.00(t, 3H, $\text{J}=7.5\text{Hz}$, CH₃-[CH₂]-), 1.41-1.48(m, 2H, -CH₂-), 1.78-1.84(m, 2H, -CH₂-), 3.01(s, 3H, CH₃-Ar), 3.94(s, 3H, CH₃O-), 4.43-4.46(t, 2H, $\text{J}=8\text{Hz}$, -CH₂-), 6.85-6.88(m, 2H, Ar-H), 7.71-7.72(d, 1H, $\text{J}=5\text{Hz}$, Ar-H), 7.95-7.97(d, 1H, $\text{J}=9\text{Hz}$, Ar-H), 8.26-8.28(d, 1H, $\text{J}=5.5\text{Hz}$, Ar-H)

实施例十八 7-甲氧基-1-甲基-9-羟乙基-吡咯[3, 4-b]吡啶盐酸盐(H-09-04)的制备方法

在 250ml 圆底烧瓶中分别加入 1.05g (5mmol) 去氢骆驼蓬碱, 15ml 二甲基甲酰胺, 25ml 四氢呋喃, 室温搅拌至溶液澄清, 然后加入 0.72g (30mol) NaH, 搅拌至无气泡产生, 滴加 3ml $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{I}$ (2-碘乙醇), 加热回流 10h。减压蒸除四氢呋喃, 剩余物倒入 100ml 冰水, 乙酸乙酯萃取 (100ml \times 3), 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗 (100ml \times 2), 饱和盐水洗 (100ml \times 2), 无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 减压浓缩至干, 乙醇重结晶, 得白色固体 0.8g, 收率 62%。取固体

0.5g, 15ml 无水乙醇溶解, 加 3ml 浓 HCl, 减压浓缩至干, 丙酮重结晶, 得灰色晶体, 为产品盐酸盐。

mp.204-206°C。

MS:m/e(M+1)257

IR (KBr,cm⁻¹):3294,1629

¹H-NMR(CDCl₃) δ : 8.15-8.16(d,1H,J=4Hz,Ar-H),7.93-7.94(d,1H,J=3.5Hz,Ar-H),7.63-7.64(d,1H,J=5Hz,Ar-H),6.88-6.95(m,2H,Ar-H),4.66-4.71(t,2H,J=5.5Hz,-CH₂-),4.06-4.08(t,2H,J=4.5Hz,-CH₂-),3.94(s,3H,CH₃O-),2.99(s,3H,CH₃-Ar)

实施例十九 7-甲氧基-1-甲基-9-苯甲基-吡咯[3, 4-b] 吡啶盐酸盐(H-09-03)的制备方法

在 250ml 圆底烧瓶中, 分别加入去氢骆驼蓬碱(2.1g, 10mmol), 二甲基甲酰胺(50ml), 四氢呋喃(50ml), 室温搅拌至溶液澄清, 然后加入 0.72g (30mol) NaH, 搅拌至无气泡产生, 滴加 8ml C₆H₅CH₂I (碘代甲基苯), 加热回流 18h。减压蒸除四氢呋喃, 剩余物倒入 100ml 冰水, 浓 HCl 调节 pH3, 乙醚萃取 (100ml×2)。水相用饱和 NaHCO₃ 溶液中和 (pH8), 然后乙酸乙酯萃取, 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗 (200ml×2), 饱和盐水洗 (200ml×2), 无水 Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 减压浓缩至干, 乙酸乙酯重结晶, 得白色固体 2.6g, 收率 86%。取白色固体 1.0g, 用 30ml 无水乙醇溶解, 加 5ml 浓 HCl, 减压浓缩至干, 丙酮重结晶, 得灰白色固体, 为产品的盐酸盐。

mp.131-133°C。

MS:m/e(M+1)303

IR (KBr,cm⁻¹):1620

¹H-NMR(CDCl₃) δ 6.76-8.30 (m, 10H, Ar-H), 5.75 (s, 2H, -CH₂-), 3.85 (s, 3H, CH₃O-), 2.88 (s, 3H, CH₃)

实施例二十 1-甲基-1,2,3,4-四氢-β-吡啶-3-羧酸的合成:

在 250ml 的圆底烧瓶中分别加入色氨酸 (5.10g, 25mmol)、0.005N H₂SO₄ 30ml、40%乙醛 9ml, 室温搅拌反应 24h, 然后加浓氨水 10ml, 加热回流 1h, 冷却, 5N 盐酸调 pH 至 6, 冰箱 4°C 放置 4h, 过滤, 水洗, 干燥, 得白色固体 4.0g, 收率 69%。mp.255-257°C。MS:m/e(M+1)231; IR(KBr,cm⁻¹):3150,1628。

实施例二十一 1-甲基-1,2,3,4-四氢-β-吡啶-3-羧酸乙酯(H-03-02)的合成:

将 1-甲基-1,2,3,4-四氢- β -吡啶-3-羧酸 (4.0g, 17mmol)、无水乙醇 150ml 加入 250ml 圆底烧瓶中, 小心加入重蒸二氯亚砷 4ml, 加热回流 3h, 然后减压蒸除乙醇, 得白色固体。加水 100ml 使白色固体溶解, 无水碳酸氢钠饱和溶液调 pH 至 9, 乙酸乙酯萃取 (200ml \times 3), 合并萃取液, 水洗, 饱和盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 乙酸乙酯重结晶, 得白色固体 3.2 g, 收率 71%。mp.223-225 $^{\circ}$ C。MS:m/e(M+1)259; IR(KBr,cm $^{-1}$):1718,1627.

实施例二十二 1-甲基- β -吡啶-3-羧酸乙酯的合成:

在 100ml 圆底烧瓶中分别加入 1-乙基-1,2,3,4-四氢- β -吡啶-3-羧酸乙酯 (3.2g, 12mmol)、硫 (1.0g, 31mmol)、二甲苯 50ml, 加热回流 24hr, 冷却至室温, 加入 2N 的稀盐酸 100ml, 充分搅拌, 分出水层, 有机层用 30ml 2N 的稀盐酸洗, 合并水相, 甲苯萃取 (100ml \times 2), 水相用饱和碳酸氢钠溶液调 pH 至 9, 乙酸乙酯萃取 (200ml \times 3), 合并萃取液, 水洗, 饱和盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 乙酸乙酯重结晶, 得白色固体 1.5 g, 收率 48%。mp.214-216 $^{\circ}$ C。MS:m/e(M+1)254; IR(KBr,cm $^{-1}$):1722,1623.

实施例二十三 1-丙基-1,2,3,4-四氢- β -吡啶-3-羧酸的合成:

在 250ml 的圆底烧瓶中分别加入色氨酸 (5.10g, 25mmol)、0.005N H₂SO₄ 30ml、正丁醛 ml, 室温搅拌反应 24hr, 过滤, 水洗, 干燥, 得白色固体 3.75g, 收率 58%。mp.248-251 $^{\circ}$ C。MS:m/e(M+1)259; IR(KBr,cm $^{-1}$):3100,1615.

实施例二十四 1-丙基-1,2,3,4-四氢- β -吡啶-3-羧酸乙酯的合成:

将 1-丙基-1,2,3,4-四氢- β -吡啶-3-羧酸 (3.75g, 14mmol)、无水乙醇 150ml 加入 250ml 圆底烧瓶中, 小心加入重蒸二氯亚砷 4ml, 加热回流 3hr, 然后减压蒸除乙醇, 得白色固体。加水 100ml 使白色固体溶解, 无水碳酸氢钠饱和溶液调 pH 至 9, 乙酸乙酯萃取 (200ml \times 3), 合并萃取液, 水洗, 饱和盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 乙酸乙酯重结晶, 得白色固体 3.5 g, 收率 84%。mp.231-233 $^{\circ}$ C。MS:m/e(M+1)287; IR(KBr,cm $^{-1}$):1726,1630.

实施例二十五 1-丙基- β -吡啶-3-羧酸乙酯的合成:

在 100ml 圆底烧瓶中分别加入 1-丙基-1,2,3,4-四氢- β -吡啶-3-羧酸乙酯 (3.5g, 12mmol)、硫 (0.8g, 30mmol)、二甲苯 80ml, 加热回流 24hr, 冷却至室温, 加入 2N 的稀盐酸 200ml, 充分搅拌, 分出水层, 有机层用 50ml 2N 的

稀盐酸洗，合并水相，甲苯萃取（100ml×2），水相用饱和碳酸氢钠溶液调 pH 至 9，乙酸乙酯萃取（200ml×3），合并萃取液，水洗，饱和盐水洗，无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩，乙酸乙酯重结晶，得白色固体 2.0 g，收率 58%。
mp.193-194°C。MS:m/e(M+1)283; IR(KBr, cm⁻¹):1719,1625.

实施例二十六 1-苯基-1,2,3,4-四氢-β-吡啶-3-羧酸的制备:

在 250ml 的圆底烧瓶中分别加入 L-色氨酸（5.1g, 25mmol）、苯甲醛（3.5ml）、1N H₂SO₄（30ml）、H₂O（70ml）和乙醇（30ml），加热回流 5hr，然后加浓氨水（40ml），继续回流 30min，减压蒸除乙醇，剩余液冷却，乙醚萃取（100ml×2），水相浓缩至 50ml，5N HCl 中和（pH 5），析出白色固体，过滤，水洗，干燥得白色固体 7.2g，收率 98%。mp.304-305°C。MS:m/e(M+1)217; IR(KBr, cm⁻¹):3100,1628.

实施例二十七 1-苯基-1,2,3,4-四氢-β-吡啶-3-羧酸甲酯的合成:

在 500ml 的圆底烧瓶中分别加入 1,2,3,4-四氢-β-吡啶-3-羧酸（7.2g, 25mmol）、甲醇（200ml），混合物用冰水冷却，搅拌下通入干燥的氯化氢气体直至溶液透明，室温搅拌 20min，加热回流 2hr，减压蒸除甲醇，固体过滤，丙酮洗涤，得灰白色固体。将上述固体溶于 100ml 冷水，饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 9，即析出灰白色固体，过滤，水洗，干燥，乙酸乙酯重结晶得白色固体 7.2g，收率 95%。mp.263-265°C。MS:m/e(M+1)307; IR(KBr, cm⁻¹):1726,1617.

实施例二十八 1-苯基-β-吡啶-3-羧酸甲酯(H-01-01)的合成:

在 100ml 的圆底烧瓶中加入 β-吡啶-3-羧酸甲酯(3.07g,10mmol)、冰乙酸（40ml），混合物冷却至 5°C 左右，搅拌下加入 Pb(OAc)₄ (8.9g,20mmol)，5°C 反应 30min，室温搅拌反应 12hr，然后将混合物倒入 100ml 冰水中，用饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 8，乙酸乙酯萃取(3 × 300ml)，合并乙酸乙酯萃取液，水洗，加入浓盐酸调节 pH 至 3，减压蒸除乙酸乙酯，剩余物水（100ml）溶解，饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 9，即析出白色固体，冷却，过滤，水洗，干燥，得灰白色固体 2.1g，收率 69%。mp.257-258°C。MS:m/e(M+1)303; IR(KBr, cm⁻¹):1722, 1623

¹H-NMR(CDCl₃) δ 8.91(s,1H,Ar-H),8.86(s,1H,Ar-H),8.20-8.21(d,1H,J=8Hz,Ar-H),7.90-7.91(m,2H,Ar-H),7.58-7.60(m,2H,Ar-H),7.54-7.57(m,2H,Ar-H),7.41-7.44(m,1H,Ar-H),7.35-7.37(m,1H,Ar-H),4.04(s,3H,CH₃O)

实施例二十九 1-(4-甲氧基苯基)-1,2,3,4-四氢- β -咔啉-3-羧酸的制备:

在 250ml 的圆底烧瓶中分别加入 L-色氨酸 (5.1g, 25mmol)、4-甲氧基苯甲醛 (4.6ml)、1N H_2SO_4 (30ml)、 H_2O (70ml) 和乙醇 (30ml), 加热回流 12hr, 然后加浓氨水 (40ml), 继续回流 30min, 减压蒸除乙醇, 剩余液冷却, 乙醚萃取 (100ml \times 2), 水相浓缩至 50ml, 5N HCl 中和 (pH 5), 析出白色固体, 过滤, 水洗, 干燥得白色固体 6.6g, 收率 82%。mp.258-261 $^{\circ}\text{C}$ 。MS:m/e(M+1)323; IR(KBr, cm^{-1}):3100,1628.

实施例三十 1-(4-甲氧基苯基)-1,2,3,4-四氢- β -咔啉-3-羧酸甲酯的合成:

在 500ml 的圆底烧瓶中分别加入 1,2,3,4-四氢- β -咔啉-3-羧酸甲酯 (6.46g, 20mmol)、甲醇 (200ml), 混合物用冰水冷却, 搅拌下通入干燥的氯化氢气体直至溶液透明, 室温搅拌 20min, 加热回流 2hr, 减压蒸除甲醇, 固体过滤, 丙酮洗涤, 得灰白色固体。将上述固体溶于 100ml 冷水, 饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 9, 即析出灰白色固体, 过滤, 水洗, 干燥, 乙酸乙酯重结晶得白色固体 6.2g, 收率 90%。mp.237-238 $^{\circ}\text{C}$ 。MS:m/e(M+1)337; IR(KBr, cm^{-1}):1720,1615.

实施例三十一 1-(4-甲氧基苯基)- β -咔啉-3-羧酸甲酯(H-01-03)的合成:

在 100ml 的圆底烧瓶中加入 β -咔啉-3-羧酸甲酯(3.36g,10mmol)、冰乙酸 (40ml), 混合物冷却至 5 $^{\circ}\text{C}$ 左右, 搅拌下加入 $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ (8.9g,20mmol), 5 $^{\circ}\text{C}$ 反应 30min, 室温搅拌反应 12hr, 然后将混合物倒入 100ml 冰水中, 用饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 8, 乙酸乙酯萃取(3 \times 300ml), 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗, 加入浓盐酸调节 pH 至 3, 减压蒸除乙酸乙酯, 剩余物水 (100ml) 溶解, 饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 9, 即析出白色固体, 冷却, 过滤, 水洗, 干燥, 得灰白色固体 2.1g, 收率 63%。mp.229-230 $^{\circ}\text{C}$ 。MS:m/e(M+1)333; IR(KBr, cm^{-1}):1714, 1611.

实施例三十二 1-(4-硝基苯基)-1,2,3,4-四氢- β -咔啉-3-羧酸的制备:

在 250ml 的圆底烧瓶中分别加入 L-色氨酸 (5.1g, 25mmol)、4-硝基苯甲醛 (3.5ml)、1N H_2SO_4 (30ml)、 H_2O (70ml) 和乙醇 (30ml), 加热回流 12hr, 然后加浓氨水 (40ml), 继续回流 30min, 减压蒸除乙醇, 剩余液冷却, 乙醚萃取 (100ml \times 2), 水相浓缩至 50ml, 5N HCl 中和 (pH 5), 析出黄色固体, 过滤, 水洗, 干燥得黄色固体 7.5g, 收率 89%。mp.262-264 $^{\circ}\text{C}$ 。MS:m/e(M+1)338;

实施例三十三 1-(4-硝基苯基)-1,2,3,4-四氢- β -咔啉-3-羧酸甲酯的合成:

在 500ml 的圆底烧瓶中分别加入 1,2,3,4-四氢- β -咔啉-3-羧酸甲酯 (7.5g, 20mmol)、甲醇 (200ml), 混合物用冰水冷却, 搅拌下通入干燥的氯化氢气体直至溶液透明, 室温搅拌 20min, 加热回流 2hr, 减压蒸除甲醇, 固体过滤, 丙酮洗涤, 得灰白色固体。将上述固体溶于 100ml 冷水, 饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 9, 即析出黄色固体, 过滤, 水洗, 干燥, 乙酸乙酯重结晶得黄色固体 4.2g, 收率 54%。mp.243-245°C。MS:m/e(M+1)352;

实施例三十四 1-(4-硝基苯基)- β -咔啉-3-羧酸甲酯 (H-01-04) 的合成:

在 100ml 的圆底烧瓶中加入 β -咔啉-3-羧酸甲酯 (3.51g, 10mmol)、冰乙酸 (40ml), 混合物冷却至 5°C 左右, 搅拌下加入 $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ (8.9g, 20mmol), 5°C 反应 30min, 室温搅拌反应 12hr, 然后将混合物倒入 100ml 冰水中, 用饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 8, 乙酸乙酯萃取 (3 \times 300ml), 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗, 加入浓盐酸调节 pH 至 3, 减压蒸除乙酸乙酯, 剩余物水 (100ml) 溶解, 饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 9, 即析出白色固体, 冷却, 过滤, 水洗, 干燥, 得灰白色固体 1.3g, 收率 37%。mp.235-237°C。MS:m/e(M+1)348;

实施例三十五 1-(4-羟基苯基)-1,2,3,4-四氢- β -咔啉-3-羧酸的制备:

在 250ml 的圆底烧瓶中分别加入 L-色氨酸 (5.1g, 25mmol)、4-羟基苯甲醛 (3.5ml)、1N H_2SO_4 (30ml)、 H_2O (70ml) 和乙醇 (30ml), 加热回流 12hr, 然后加浓氨水 (40ml), 继续回流 30min, 减压蒸除乙醇, 剩余液冷却, 乙醚萃取 (100ml \times 2), 水相浓缩至 50ml, 5N HCl 中和 (pH 5), 析出黄色固体, 过滤, 水洗, 干燥得黄色固体 7.2g, 收率 94%。mp.281-283°C。MS:m/e(M+1)309;

实施例三十六 1-(4-羟基苯基)-1,2,3,4-四氢- β -咔啉-3-羧酸甲酯的合成:

在 500ml 的圆底烧瓶中分别加入 1,2,3,4-四氢- β -咔啉-3-羧酸甲酯 (7.2g, 24mmol)、甲醇 (200ml), 混合物用冰水冷却, 搅拌下通入干燥的氯化氢气体直至溶液透明, 室温搅拌 20min, 加热回流 2hr, 减压蒸除甲醇, 固体过滤, 丙酮洗涤, 得灰白色固体。将上述固体溶于 100ml 冷水, 饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 9, 即析出灰白色固体, 过滤, 水洗, 干燥, 乙酸乙酯重结晶得白色固体 6.4g, 收率 85%。mp.258-260°C。MS:m/e(M+1)323;

实施例三十七 1-(4-羟基苯基)- β -咔啉-3-羧酸甲酯 (H-01-02) 的合成:

在 100ml 的圆底烧瓶中加入 2 (3.22g,10mmol)、冰乙酸 (40ml), 混合物冷却至 5℃左右, 搅拌下加入 $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ (8.9g,20mmol), 5℃反应 30min, 室温搅拌反应 12hr, 然后将混合物倒入 100ml 冰水中, 用饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 8, 乙酸乙酯萃取(3 ×300ml), 合并乙酸乙酯萃取液, 水洗, 加入浓盐酸调节 pH 至 3, 减压蒸除乙酸乙酯, 剩余物水 (100ml) 溶解, 饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 9, 即析出白色固体, 冷却, 过滤, 水洗, 干燥, 得灰白色固体 1.8g, 收率 56%。mp.267-269℃。MS:m/e(M+1)319。

实施例三十八 体外抗肿瘤活性实验 (MTT 法)

将细胞以约 10^5 个/ml 的密度接种于 96 孔板上, 每孔 100 μ l, 培养至对数生长期。按预设的浓度梯度加入待测样品, 每一梯度设 3 个重复。对照组加入等体积的溶解样品用的溶媒。继续培养 48 小时后, 每孔加入 5mg/ml 的 MTT20 μ l, 继续置于 37℃温育 4 小时。小心除去上清后, 每孔加入 100 μ l 的 DMSO(二甲基亚砷), 振荡约 10min 溶解沉淀。立即在酶标仪上检测 O.D. (吸光度) 值, 波长 570nm。以下式求出每一样品浓度下的细胞存活率:

存活率% = 样品组平均 O.D.值 / 对照组平均 O.D.值 $\times 100\%$

以细胞存活率对药物浓度作图, 按作图法求出 IC_{50} (半数抑制浓度) 值, 结果如下表 1, 试验所用的样品为如下代号的样品:

H1 (去氢骆驼蓬碱)、H-01-01、H-01-02、H-01-03、H-01-04、H-03-01、H-03-02、H-03-03、H-03-04、H-03-05、H-03-06、H-03-07、H-03-08、H-03-09、H-09-01、H-09-02、H-09-03、H-09-04、H-09-05。细胞株编号分别为: 1: PLA-801(非小细胞肺癌)2: 95-D(高转移肺癌)3: HepG2 (肝细胞癌)4: Bel-7402(肝细胞癌)5: BGC-823(胃癌)6: SGC-7901(胃癌)7: Hela(宫颈癌)8: Lovo(结肠癌)9: NIH3T3(小鼠成纤维细胞)10: Chang's liver(人正常肝细胞)

表1 体外抗肿瘤活性 (IC50 值, μ g/ml)

细胞 样品	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
H1	113	119	115	61	17	605	15	165	16	435
H01-01	643	575	400	>1000	5714	418	108	8403	165	>1000
H01-02	3774	1000	>1000	3981	3572	950	568	2292	805	684
H01-03	/	>1000	>1000	/	/	/	/	/	/	/
H01-04	/	>1000	>1000	/	/	/	/	/	/	/
H03-01	159	290	440	287	640	8597	249	360	1875	645
H03-02	2784	328	520	287	790	3632	3153	337	3438	900
H03-03	776	60	635	77	73	1522	264	42	508	37
H03-04	695	138	75	57	70	1387	556	42	156	20
H03-05	346	173	33	54	50	1067	502	485	25	218
H03-06	/	74	34	42	231	/	/	31	49	204
H03-07	62	32	31	1238	537	1125	49	447	20	322
H03-08	762	59	346	8062	3535	514	157	2809	22	4064
H03-09	/	/	/	/	/	/	/	/	13	39
H09-01	6	43	38	77	125	158	48	472	204	778
H09-02	34	61	19	178	21	234	85	267	118	262
H09-03	22	106	29	196	325	285	92	177	16	262
H09-04	23	26	92	717	60	212	74	8	22	843
H09-05	76	88	41	167	136	71	2	114	11	256
H03-10	>1000	>1000	120	>1000	>1000	>1000	789	>1000	48	>1000

实施例三十九 急性毒性实验

(1) 实验材料

受试化合物: H-03-04、H-03-05、H-03-06、H-03-07、H-09-01、H-09-02、H-09-03、H-09-05。

实验动物: 昆明种小鼠(中科院上海实验动物中心提供, 合格证号: 沪动合证字第 107 号), 体重 19-20 克, 雌雄各半。每 20 只小鼠一组。

溶剂: 生理盐水、0.5%CMC-Na 溶液

(2) 实验方法

1) 剂量设置

根据预试, 各样品设计五档剂量, 如表 2。

表 2 剂量设置

	剂量(mg/kg)				
III	464	215	100	46.4	21.5
H-03-04	200	160	128	102.4	81.92
H-03-05	100	80	64	51.2	40.96
H-03-06	150	120	96	76.8	61.44
H-03-07	500 (因样品数量有限, 只做最大耐受剂量)				
H-09-01	40	32	25.6	20.48	16.38
H-09-02	50	40	32	25.6	20.48
H-09-03	200	160	128	102.4	81.92
H-09-05	40	32	25.6	20.48	16.38

2) 药物配制

H1、H-03-05、H-03-06、H-09-01、H-09-02 为水溶性, 用生理盐水溶解即可。H-03-04、H-03-07、H-09-03、H-09-05 水难溶, 实验时加少量吐温 80 湿润助溶, 逐渐加入 0.5%CMC-Na 溶液至所需浓度即可。

3) 给药方式

单次静脉或腹腔给药。静脉注射速度为 1ml/min。

H1、H-03-05、H-03-06、H-09-01、H-09-02 静脉给药，H-03-04、H-03-07、H-09-03、H-09-05 腹腔给药。

4) 急性毒性试验

取昆明种小鼠，按性别随机分组，各组按剂量设置分别给药，观察小鼠给药后的即时反应。死亡动物进行解剖观察，存活动物继续观察二周，并记录二周内动物死亡情况。二周后将存活动物进行解剖，观察实质性脏器的病变，具有实质性病变的脏器作病理检查。根据各组动物的死亡数，以 Bliss 方法计算药物的 LD_{50} 值。

5) 结果见表 3:

表 3 LD_{50} 值

	$LD_{50}(mg/kg)(95\%CL)$		
	雄	雌	雌雄各半
H1	62.5(56.20-121.00)	56.2(31.30-101.00)	59.00(43.50-110.00)
H-03-04	139.68(120.64-161.72)	130.91(112.5-152.32)	135.22(121.62-150.34)
H-03-05	73.07(64.44-82.85)	68.43(59.65-78.50)	70.61(64.17-77.70)
H-03-06	98.26(85.89-112.42)	91.96(80.46-105.10)	95.06(96.40-104.60)
H-03-07	最大耐受剂量>500mg/kg		
H-09-01	25.10(22.14-28.45)	23.39(20.86-26.22)	24.25(22.24-26.44)
H-09-02	27.33(23.75-31.44)	25.60(22.17-29.56)	26.45(23.91-29.26)
H-09-03	153.46(130.16-180.94)	142.49(123.38-164.56)	147.82(132.55-164.85)
H-09-05	30.65(26.82-35.03)	27.25(24.12-30.79)	28.92(36.45-31.61)

实施例四十 药效学实验

1 实验材料

受试化合物：H1、H-03-04、H-03-05、H-03-06、H-03-07、H-09-01、H-09-02、H-09-03、H-09-05。阳性对照品为注射用环磷酰胺(CTX)（上海化联制药集团产品）。

实验动物：C₅₇BL/6 小鼠及昆明种小鼠（中科院上海实验动物中心提供，合格证号：沪动合证字第 107 号），体重均为 18-20 克，雌雄皆可，每批实验使用

同一性别。抗肿瘤实验 C₅₇BL/6 小鼠及昆明种小鼠 8-10 只小鼠一组，阴性对照各为两组。

瘤源：小鼠 Lewis 肺癌、S180 肉瘤，由上海医药工业研究院药理室传代维持；小鼠肝癌 HepA，由中山大学肿瘤研究所提供。

溶剂：生理盐水、0.5%CMC-Na 溶液

2 实验方法

1) 剂量设置

受试药物设高、中、低三个剂量组，分别取该药物静脉或腹腔单次给药 LD₅₀ 的 1/5、1/10 和 1/20。H-03-06 和 H-03-07 由于样品量不足，只设两个剂量组，H-03-07 由于毒性较低，采用 100mg/kg 和 50mg/kg 两个剂量。各受试药物及阳性对照所用的剂量如表 4。

表 4 给药剂量

	剂量(mg/kg)		
	高	中	低
CTX	30	30	30
H1	10	5	25
H-03-04	27	135	6.75
H-03-05	14	7	35
H-03-06	20	—	10
H-03-07	100	—	50
H-09-01	5	25	125
H-09-02	53	265	1325
H-09-03	30	15	75
H-09-05	58	29	145

2) 药物配制

H1、H-03-05、H-03-06、H-09-01、H-09-02 为水溶性，用生理盐水溶解即可。H-03-04、H-03-07、H-09-03、H-09-05 水难溶，实验时加少量吐温 80 湿润助溶，逐渐加入 0.5%CMC-Na 溶液至所需浓度即可。

3) 给药方案

H1、H-03-05、H-03-06、H-09-01、H-09-02 静脉给药，H-03-04、H-03-07、H-09-03、H-09-05 腹腔给药。每天一次，连续给药 7 天，共给药 7 次。

阴性对照以等体积的相应溶剂，均为静脉给药，每天 1 次，连续 7 天。阳性对照 CTX 按 30mg/kg 的剂量，静脉给药，每天一次，连续 7 天。

4) 抗肿瘤药效试验

采用体内抗肿瘤腋皮下接种模型：无菌条件下取生长旺盛的瘤源，以匀浆法制备成约 $1 \times 10^7/\text{ml}$ 的细胞悬液，于相应宿主腋皮下接种 0.2ml/鼠，次日按实验设计方案给药，三周左右处死各组动物，剖取肿瘤称重，按下式计算抑瘤率：

抑瘤率% = $[(\text{阴性对照组平均瘤重} - \text{给药组平均瘤重}) / \text{阴性对照组平均瘤重}] \times 100\%$ ，结果见表 5。

表5 抑瘤率结果

样品编号	给药途径	抑瘤率%			毒性	
		Lewis肺癌	S180	HepA肝癌	LD ₅₀ mg/kg	神经毒症状
III	iv	34.1	153	213	59.0	++
H-03-04	ip	33.4	322	NT	1352	-
H-03-05	iv	35.0	31.1	NT	706	+
H-03-06	iv	30.5	29.0	NT	95.1	+
H-03-07	ip	41.2	43.1	NT	NT	-
H-09-01	iv	42.0	37.6	49.5	25.1	++
H-09-02	iv	44.0	40.9	10.0	27.3	++
H-09-03	ip	46.9	45.2	41.7	153.4	++
H-09-05	ip	38.1	32.1	NT	28.9	++
CIX	iv	87.04	87.46	57.12		

实施例四十一 体内神经毒性观察 (剂量同急性毒性试验)

H1 给药后各组动物即时出现不同程度的震颤、跳跃、抽搐、强直、仰卧；高剂量组动物即时出现抽搐后死亡，低剂量各组动物震颤持续 15-20min 后逐渐缓和，次日均恢复正常。反应一般在半小时左右逐渐消失。死亡高峰出现在给药后 1 个小时内。死亡动物进行解剖，大体观察未见明显的脏器异常。

H-03-04 给药后约 2 分钟各组动物均出现不同程度的少动、松毛、蜷缩、行走不稳、闭眼、昏沉，但未见动物有节律性震颤现象。高剂量组动物死亡出现在 10 分钟后，死亡高峰出现在给药后 1 个小时内。死亡动物进行解剖，大体观察未见明显的脏器异常。

H-03-05 给药后小鼠即时出现跳跃、伏卧不动、呼吸加快、震颤。高剂量组动物死亡出现在 10 分钟后，死亡高峰出现在给药后 1 个小时内。死亡动物进行解剖，大体观察未见明显的脏器异常。

H-03-06 静脉给药后即时各组动物均出现不同程度的跳跃、蹦窜，继而伏卧不动，出现腹式呼吸主，个别动物小便失禁，动物死亡出现在 3min 后。低剂量组各动物 10-15min 后逐渐缓和，次日均恢复正常。反应一般在半小时左右逐渐

消失，死亡高峰出现在给药后 1 小时之内。死亡动物进行解剖，大体观察未见明显的脏器异常。

H-03-07 给药后，除注射局部出现收缩、扭歪、拉伸等刺激性反应外，未出现震颤等神经毒症状。

H-09-01 和 H-09-02 给药后约 2 分钟各组动物均出现不同程度的尖叫、震颤、跳跃、抽搐、强直、仰卧；高剂量组动物即时出现抽搐后死亡，低剂量各组动物逐渐缓和，次日均恢复正常。反应一般在半小时左右逐渐消失。死亡高峰出现在给药后 1 个小时内。死亡动物进行解剖，大体观察未见明显的脏器异常。

H-09-03 给药后约 2 分钟各组动物均出现不同程度的尖叫、跳跃；高剂量组动物抽搐、强直、仰卧直至死亡，低剂量各组动物节律性震颤，数小时后恢复正常。死亡高峰出现在给药后 1 个小时内。死亡动物进行解剖，大体观察未见明显的脏器异常。

H-09-05 给药后小鼠即时出现嘴咬、舔腹部进针部位，并出现尖叫、跳跃、收腹、抽搐、翻滚、震颤、强直；高剂量组动物死亡出现在 2 分钟之后，低剂量各组动物出现不同程度的松毛、蜷缩、震颤，持续约 30 分钟，次日恢复正常。死亡高峰出现在给药后 1 个小时内。死亡动物进行解剖，大体观察未见明显的脏器异常。

H-03-04 及 H-03-07 毒性低，且在急性毒性试验时未出现震颤等神经毒现象，宜结合疗效作进一步的观察和分析；H-09-03 的 LD_{50} 值较大，毒性也较低，但仍然有明显的神经毒性；H-03-05 和 H-03-06 毒性较 H-03-04 为高，但在低剂量时神经毒性不甚严重。H-09-01、H-09-02、H-09-05 对昆明种小鼠仍然有明显的神经毒性，与去氢骆驼蓬碱相似。

说明书附图

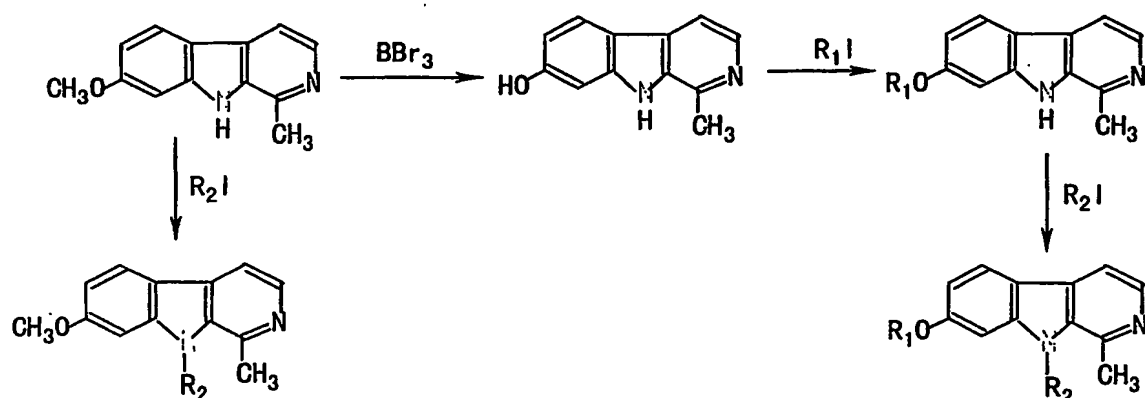


图 1

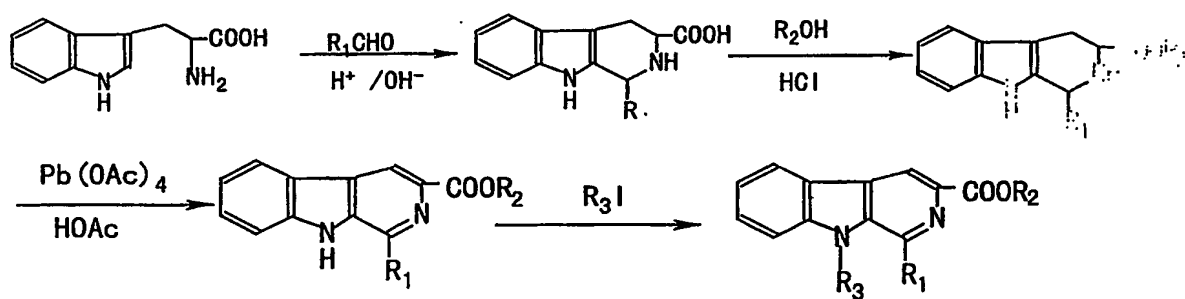


图 2